DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).1991.0084

珊瑚骨修复颌面骨缺损：生物相容性及骨亲和性探讨*

曾融生　任材年　于秦曦

（口腔系）

提　要　采用海南岛滨珊瑚作原料，经过一系列理化处理制成多孔状珊瑚人工骨；检测材料的理化性质及生物相容性，并移植于家兔下颌骨体部实验性缺损区内，观察半年，结果表明：珊瑚人工骨具有良好的生物相容性和骨亲和性，植入后其合适的微孔道结构有利于宿主骨的长入和替代，是一种可供选择的颌面骨缺损修复材料。

关键词　珊瑚　生物相容性材料　骨修复

寻找各种颌面骨缺损的修复材料，是口腔医学领域关注的课题。近年来许多学者致力于研究能与骨直接结合的人工骨材料。研究发现，除了需要植入的材料成份与无机骨相近外，如把材料制成多孔结构，更有利于宿主骨长入材料内部，与之结合[1]。

造礁珊瑚形成过程特殊，在其内部产生许多大小均匀的孔，加之本身为生物外骨骼，所以国外学者设想珊瑚可能作为一种骨修复材料，并进行一系列有关研究[2~5]，结果认为是有潜力的人工骨材料。由于珊瑚种属繁多，性能结构各异，且国内未见这方面报道，故请教有关海洋生物学家后，我们于1987年经过筛选，用海南岛产造礁珊瑚的一种——滨珊瑚，制成珊瑚人工骨，检测了人工骨的理化性能和生物相容性，观察人工骨植入后的生长情况，并在此基础上应用于临床。现将实验研究部分报道如下。

材料和方法

材料的制备及理化性质检测　以海南三亚市浅海产滨珊瑚作原料，经处理制成珊瑚人工骨（图1），高压消毒备用。材料的理化性质见表1。

表1　珊瑚人工骨主要理化性质

	指　标		检测方法
材料外观	白色块状		目视
内部结构	多孔状，孔径150～200μm左右（图2）		电镜观察
化学成分（%）	$CaCO_3$	95.740	化学分析、比色分析和原子吸收光谱分析
	PO_4	0.014	
	Sr	1.000	
	Na	1.400	
	Mg	0.100	
	K	0.007	
	H_2O	0.295	
	所有氨基酸未检出（<0.0015%）		HPLC氨基酸分析仪
抗压强度	30～40kg/cm²		抗压强度测试机

材料的生物相容性测试

1．*急性毒性实验*　取重5g材料3块，分别置于20ml生理盐水，5%酒精生理盐水和植物油3种溶剂内，121℃浸泡1小时，制成材料浸出液。选用昆明小白鼠60只，体重16～20g，雄雌各半，随机分为6组，每组10只。将3种材料浸出液和3种溶剂（作阴性对照）以50ml/kg的剂量分别注入每组小鼠腹腔内，于正常情况下饲养7天，观察动物生长和死亡情况。

2．*细胞毒性实验*　用15%小牛血清和3%琼脂液混合成培养基，覆盖于在平板上传代72小

*本研究由学校中青年科学基金资助

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

时生长旺盛的L-929细胞株上并染色。材料研磨成末粒状，在每 1cm² 范围培养基内加入50mg，并在同样成份的其他培养基上分别加戊二醛浸片和聚乙烯作阳、阴性对照。经37℃培养24小时，观察材料周围脱色区范围和细胞溶解情况。

3．皮肤刺激试验　取5g材料2块，分别置于20ml生理盐水和20ml植物油中，121℃下浸泡1小时，制成两种材料浸出液。选用杂种雄性灰兔4只，每只在背部脊柱左侧选4点，先选2只每点皮内注入0.2ml生理盐水材料浸出液，另2只每点皮内注入0.2ml植物油材料浸出液。每只兔背部脊柱右侧同样选4点，前2只2个点皮内注入0.2ml生理盐水(阴性对照)，另2个点皮内注入0.2ml 20%酒精(阳性对照)，后2只2个点皮内注入0.2ml植物油(阴性对照)，另2个点皮内注入0.2ml 20%酒精(阳性对照)。注射后观察72小时内各点皮肤反应。

4．Ames试验　材料研成末粒状，与3%淀粉液调制混悬液。实验菌株为鼠伤寒沙门菌组氨酸缺陷型突变菌株：TA97、TA98、TA100和TA102。采用平皿掺入法，每皿加入的材料含量分别为5μg、50μg、100μg、2 000μg和5 000μg。按加S_9和不加S_9进行测试，选用丝裂霉素C，叠氮钠和2-氧基芴作阳性对照物。将平皿于37℃培养48小时，观察结果。

动物植入实验

1．植入材料　上述珊瑚人工骨，制成1.5cm×0.8cm×0.2cm长方块，高压消毒。

2．实验动物　健康成年杂种雄性灰兔，体重2.5～3.5kg，年龄0.5～1岁，共8只。

3．实验方法　动物分为4组，每组2只。全麻下切开暴露双侧下颌骨下缘和内外侧。在双侧下颌骨各制备一长1.5cm，深0.8cm的缺损。一侧植入已制备好的珊瑚人工骨，细钢丝固定，另侧缺损不植入材料作空白对照，术区逐层缝合。分别于术后1、2、4和6个月处死一组动物，取出双侧下颌骨(包括术区周围部分软组织)，立即拍X线片，随即10%福尔马林固定标本，经脱钙，脱水，氯仿透明及石蜡包埋，HE染色作组织学观察。

结　果

生物相容性测试

1．急性毒性实验　观察1周内，见植物油阴性对照组小鼠于第4天死亡1只，其他小鼠状态和体重无明显变化，无小鼠死亡。试验结果为阴性[6]，表明该材料无急性毒性作用。

2．细胞毒性实验　材料和阴性对照物周围未见脱色，细胞无溶解，而阳性对照物周围见3.2mm脱色区。按有关标准评级[6,7]，该材料细胞毒性为0级。

3．皮肤刺激试验　注射阳性对照物(20%酒精)的各点皆出现皮肤红肿，丘疹或小疱。其他注射点均无明显皮肤反应。按有关标准评定[7]，表明该材料无皮肤刺激作用。

4．Ames试验　试验皿和空白对照皿比较均未见回变菌落数增多，而阳性对照物结果为阳性。评价：本试验条件下该材料无致突变作用。

动物植入实验

肉眼观察植入部位无感染，植入物无排出。

1．X线表现　植入1个月后，珊瑚骨边缘锐利，与宿主骨之间有明显的X线透射间隙，其密度比宿主骨高。植入2个月后见珊瑚骨边缘轻度模糊，少量骨痂形成，但轮廓清晰，密度仍比宿主骨高。植入4个月后珊瑚骨边缘模糊不清，与宿主骨组织渐成一体，本身密度与宿主骨接近。植入6个月后珊瑚骨已失去原来形状，缺损区明显变小，新生骨组织已修复下颌缘。对照侧植入4～6月后仍未见明显骨修复，缺损范围仍无明显改变。

2．组织学表现(光镜)　植入1个月后见植入区仍有部分未完全脱钙的珊瑚颗粒，周围有一层较厚而致密的纤维结缔组织包绕，少量炎症细胞浸润。植入2个月后植入区珊瑚颗粒周围的纤维组织变薄而疏松，炎症细胞消

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

失，结缔组织内有许多新生骨组织并已形成片状骨小梁。植入4个月后植入区周围的纤维结缔组织已不完整，代之以大量的新生骨组织，相互连接为网状的骨小梁。植入 6 个月后珊瑚颗粒已消失，植入区大量新生骨小梁呈网状排列，表面有许多排列成行的成骨细胞。部分骨组织已较成熟，出现哈佛系统（图4 ）。对照侧：术后 1、2 和 4 个月组织学表现相似，骨组织为成熟的板层骨，表面见许多成骨细胞，但新生骨组织不明显。术后 6 个月见成熟骨组织上有类骨质沉积。

讨　论

珊瑚人工骨的结构与性能

通常所说的珊瑚分类上属于腔肠动物门珊瑚纲石珊瑚目。其活体珊瑚虫是一种体型很小的多细胞动物。珊瑚虫在生活过程中从海水里获得钙和其他矿物质而建造供自身栖息的外骨骼。由于珊瑚虫不断繁殖和死亡，其外骨骼逐渐形成各种形状并有特殊的微孔道结构。因此珊瑚骨在化学成份和形态结构上与无机骨相类似[4,5]。

珊瑚属种繁多，其珊瑚骨的微结构和强度等各不相同。本实验所选的珊瑚，大多呈石头状，广泛分布于海南岛各地，来源丰富[8]。所制成的人工骨，经实验证明生物相容性良好。

珊瑚人工骨的功能

珊瑚人工骨在骨缺损的修复中起着促进骨生长的支架作用[6]。Kawamura 报道，有孔材料的孔径小于75μm时，植入后周围骨组织很难长入，90～200μm 时较适宜新骨长入[9]。一般认为200μm 左右是骨组织长入最理想的孔径。本文所选的珊瑚，孔径 150～200μm，符合这一理想要求，且孔道互通，有利于长入骨组织的营养和成熟。

由上可知，珊瑚人工骨促进新生骨迅速长入的作用在于它植入后为宿主骨的生长修复提供一个合适的三维结构，便于宿主骨接触面的毛细血管芽及成骨细胞长入，同时由于本身降解作用，逐渐被长入的新生骨组织替代。这一过程称为骨引导作用[5,11]。

珊瑚人工骨的生物降解性

珊瑚人工骨具有较快的生物降解性。一般认为植入后 2 周出现降解迹象，在 4 ～12个月之内大部分降解，由新骨替代[4,5,10]。本文动物实验X线片见植入 4 个月后，珊瑚骨密度与宿主骨相近，6 个月后已基本降解，被新骨替代。其降解速度与文献报道相似。

珊瑚骨的生物降解作用有利于宿主骨的长入和替代，但如果降解速度快于骨再生速度，则使缺损区产生不完全修复，丧失部分体积。由于珊瑚属种的不同及植入动物和部位的差别，报道植入后降解的速度不一样，故骨修复后的体积的丧失率各不相同，约在10%～40%之间，也有报道无明显体积丧失者[4,5,10]。本文动物实验见所修复的下颌缘无严重凹陷，但修复区中有部分密度降低区，提示新生骨部分变薄。

珊瑚人工骨应用前景

经实验研究，作者认为本文所选的珊瑚人工骨具有良好的生物相容性，能促进骨缺损的修复，且来源丰富，易加工贮存，消毒方便，是一种可供选择的骨修复材料。但本实验所选人工骨质地较脆，抗压强度低，故只适用于骨腔充填，颌面骨整形性修复等不受力或受力小的骨缺损的修复，而对于受力较大的骨缺损，可考虑联合使用其他材料加以修复。鉴于珊瑚种属多，其孔径，硬度等各不相同，作者认为今后应对其他一些种属进行比较研究，以寻找适合于不同骨缺损类型的珊瑚材料。

（本文附图见插页 2 ）

（本文研究得到我校卫生系莫自耀老师，口腔系林以理老师，中心实验室蔡葵花老师及广州市卫生防疫站等单位及同志大力帮助，谨表衷心感谢）

参 考 文 献

1. Shimazaki K, et al. Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute. J Orthop Res 1985;3(3):301

2. Roy DM, et al. Hydroxyapatite formed

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

from coral skeleton carbonate by hydrothermal exchange. Nature 1974;247:220
3. Chamberlain JA. Mechanical properties of coral skeleton, compressive strength and its adaptative significance. Paleobiology 1978;4(4):419
4. Souyris F, et al. Coral, a new biomedical material. J Maxillofac Surg 1985;13:64
5. Guillemin G, et al. The use of coral as a bone graft substitute. J Biomed Mater Res 1987;21:557
6. 毛德寿. 环境生物毒理学. 沈阳：辽宁大学出版社， 1986:10
7. 苗田（译）. 医用材料的评价. 国外医学生物医学工程分册 1980;3(1):34
8. 邹仁林，等. 海南岛浅水造礁石珊瑚. 北京：科学出版社， 1975:33
9. Kawamura M, et al. Chondroosteogenetic response to crude bone matrix protein bound to hydroxyapatite. Clin Orthop 1987;217:281
10. Chroff RT, et al. Tissue ingrowth of replamineform implants. J Biomed Mater Res 1975;6:29
11. Porlo DJ, et al. Contemporary bone graft physiology and surgery. Clin Orthop 1985;200:322

AN EXPERIMENTAL STUDY OF USING CORAL AS A SUBSTITUTE FOR MAXILLOFACIAL BONE RECONSTRUCTION

Zeng Rongsheng　Ren Cainian　Yu Qinxi

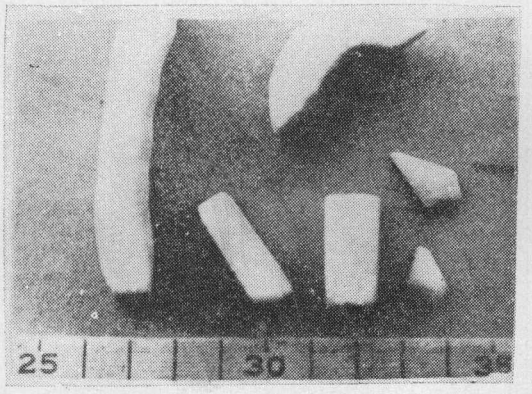
(Faculty of Stomatology)

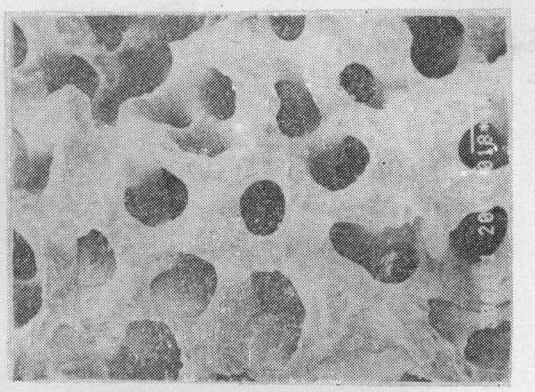
A kind of coral, P. Lutea, was selected and developed as a bone substitute. The skeleton of the coral is almost composed of minerals (most of them are aragonite $CaCO_3$) and the structure shows interconnected micropores with a mean diameter of 150～200μm, which resembles mineral bone chemically and morphologically. The mechanical properties and biocompatibility of the coral were tested, then it was implanted into the defects in inferior border of rabbits' mandibles. Observations at 1, 2, 4, and 6 monthes showed that the bone tissues grew into the micropores of coral which was biodegraded gradually and replaced it eventually. The implants were well tolerated and elicited no deleterious host response. Hence authors believe that the micropores in thec oral are suitable for bone tissue ingrowth. After implanted, the coral is acted as a bone conductor and can promote bone repairment of defects. It seems to be a useful bone substitute.

Key words　Coral Madreporaria　Biocompatible materials　Bone graft

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

珊瑚骨修复颌面骨缺损：生物相容性及骨亲和性探讨 （正文见第276页）





1 2
3 4

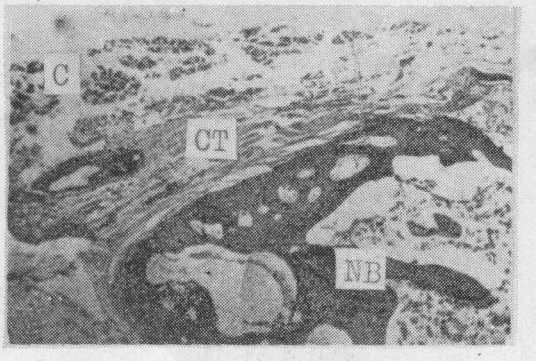




图 1　已制备成形的珊瑚人工骨

图 2　珊瑚人工骨表面电镜扫描

为多孔状结构，孔大小较均匀，且相互交通，孔径约150～200μm。图中标尺为180μm

图 3　珊瑚骨植入 2 个月组织学表现

珊瑚颗粒（C）减少，结缔组织（CT）变薄，新生骨（NB）形成片状骨小梁。H-E.10×4

图 4　珊瑚骨植入 6 个月织织学表现

植入后由新骨（NB）替代，并与骨组织（B）相连。H-E.10×4

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net